

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-276721

(43)Date of publication of application : 20.10.1998

(51)Int.Cl.

A23L 1/30
A23L 1/327
A23L 2/52
A61K 31/12
A61K 31/215

(21)Application number : 09-093819

(71)Applicant : SUNTORY LTD
ITANO REFRIGERATED FOOD CO
LTD

(22)Date of filing : 11.04.1997

(72)Inventor : GUYUEN VAN CHUEN
KENMOTSU MINAYOSHI
ARAI HANAE
YAMASHITA EIJI

(54) ASTAXANTHIN-CONTAINING FOOD OR DRINK

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain food or drink having action preventing cataract or action suppressing progress of the cataract, excellent in safety and useful for medicines, etc., by adding astaxanthin (ester).

SOLUTION: This food or drink is obtained by adding astaxanthin, e.g. obtained by subjecting a natural product such as krill to extraction treatment and/or its ester permissible as a edible use. Furthermore, it is preferable to produce a medicine for preventing cataract or suppressing the progress of the cataract by using the astaxanthin and/or its pharmaceutically permissible ester and daily dose of astaxanthin (ester) is preferably 1-20 mg/adult.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 12.04.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 05.01.2006

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平 10 - 276721

(43) 公開日 平成10年 (1998) 10月20日

(51) Int. Cl. ⁶		識別記号	F I		
A 2 3 L	1/30		A 2 3 L	1/30	Z
	1/327			1/327	
	2/52		A 6 1 K	31/12	A B L
A 6 1 K	31/12	A B L		31/215	
	31/215		A 2 3 L	2/00	F
審査請求 未請求 請求項の数 7			O L		(全 9 頁)
(21) 出願番号 特願平9-93819			(71) 出願人 000001904 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号		
(22) 出願日 平成9年 (1997) 4月11日			(71) 出願人 591265954 イタノ冷凍株式会社 徳島県鳴門市瀬戸町明神字式軒家33番地の2		
			(72) 発明者 グェン ヴァン チュエン 東京都町田市真光寺町798番5号		
			(72) 発明者 監物 南美 東京都小金井市梶野町1丁目3番14号		
			(74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外5名)		
			最終頁に続く		

(54) 【発明の名称】 アスタキサンチン含有飲食物

(57) 【要約】

【課題】 白内障を予防又は抑制するための飲食物及び医薬を提供する。

【解決手段】 安全な天然由来の物質であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有する、白内障の予防又は抑制作用を有する飲食物及びその使用、並びにアスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする白内障を予防又は抑制するための医薬品。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アスタキサンチン及び／又はその食用に許容されるエステルを添加してなる、白内障を予防する作用又はその進行を抑制する作用を有する飲食物。

【請求項2】 アスタキサンチン及び／又はその食用に許容されるエステルが、天然物から得られたものである請求項1記載の飲食物。

【請求項3】 上記天然物から得られたものが、オキアミ抽出物である請求項2記載の飲食物。

【請求項4】 アスタキサンチン及び／又はその食用に許容されるエステルからなる、白内障の予防又はその進行の抑制を目的とする食品用の添加剤。

【請求項5】 アスタキサンチン及び／又はその薬用的に許容されるエステルを有効成分として含有してなる、白内障を予防又はその進行を抑制するための医薬品。

【請求項6】 白内障を予防する作用又はその進行を抑制する作用を有する飲食物製造のためのアスタキサンチン及び／又はその食用に許容されるエステルの使用。

【請求項7】 白内障を予防又はその進行を抑制するための医薬品製造のためのアスタキサンチン及び／又はその薬用的に許容されるエステルの使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する分野】本発明は、アスタキサンチン及び／又はそのエステルからなる、白内障の予防または抑制作用を有する飲食物及びその使用、並びにアスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする白内障を予防又は抑制するための医薬品に関するものである。

【0002】

【従来の技術】白内障は水晶体の混濁した状態の総称であり、老人に多く発症する。また糖尿病に伴って発症し、進行性の疾患としても知られる。水晶体は元来、透明な組織であり、外界の像を常に網膜面に結像させているが、長い年月によって水晶体は混濁し、この混濁によって視力障害が生じ、最終的には失明に至る。このように白内障は普遍的な疾患でありながら、その成因は未だ明らかになっておらず、一度混濁してしまった水晶体を薬物投与によって元の透明な状態に戻すことは現在の医療では到底困難である。そして視力が0.01以下になる等、視力が極端に低下した場合には、外科的手法によって白濁部分を摘出し眼鏡又はコンタクトレンズで視力を矯正して改善するしか方法はない。発展途上国においては手術医の不足に伴い、視力障害の90%以上が白内障であることが深刻な社会問題となっており、その障害発症程度を緩和することが急務となっている。したがって薬物による原因療法的治療や、混濁の予防または進行の抑制による水晶体の保護が強く望まれていた。

【0003】近年、白内障の発症メカニズムを解明することが急務との認識から、種々の生化学的研究が行われており、例えば、糖尿病では高血糖にともない房水中の

グルコースが増加し、水晶体へ移行しそこでアルドースレダクターゼの作用を受けてソルビトールに還元されるが、ソルビトールは水晶体囊を通過し得ないため浸透圧のバランスが崩れ、膜が損傷されて混濁が起これといわれている(Kinoshita, J. H.: JAMA, 246, 257 (1981))。そして最近多くのアルドースレダクターゼ阻害剤が開発され、検討されている(代謝 Vol. 26, No. 27, P629 (1989))。

【0004】またMonnierらは、ウシレンズクリスタリンを糖と反応させると特有の蛍光物質が生成され、この蛍光物質が白内障患者から得られたレンズタンパクに見られる蛍光物質と同一の蛍光特性を持っていることを示し、AGE (Advanced Glycosylation End Products) が生体内でも生成され、糖尿病白内障と関連があるとしている(Monnier, V. M. and Cerami, A.: Science, 211, 491 (1981))。

【0005】さらに水晶体は老化とともに僅かずつ回転し周期的に光と酸素にさらされる特殊な組織であることから、細胞膜の脂質過酸化も水晶体混濁をもたらすと考えられ、小原らは、生体内の酸化防御機構の障害が白内障の発症要因であると推測している(小原喜隆、門屋講司、新井清美ほか：日眼会誌, 99, 1303 (1995))が、その一方、平岩らは活性酵素による障害が白内障のイニシエーターとなり得ないことを報告(平岩紀子、馬嶋慶直、太田好次ほか：あたらしい眼科, 1, 97 (1984))している。このように、現在のところ白内障の成因は明らかではない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、白内障を効果的に予防又はその進行を抑制する安全性の高い物質からなる食品添加物および飲食物を提供することである。

【0007】本発明の別の目的は、白内障を効果的に予防又はその進行を抑制する安全性の高い物質を有効成分とする医薬品を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは水晶体の保護を目的とし、自然界より、白内障を予防又はその進行を抑制する活性を有し、かつ安全性に優れた化合物を鋭意探索した結果、アスタキサンチンおよびそのエステルが、白内障の抑制に有効であることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】したがって本発明は、アスタキサンチン及び／又はそのエステルを添加して成る、白内障を予防する作用又は白内障の進行を抑制する作用を有する飲食物及びその使用、並びにアスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする白内障を予防又はその進行を抑制するための医薬品を提供する。アスタキサンチンは、主として魚類への体色改善剤や家畜への色調改善添加剤として(例えば特開昭57-206342、特開昭60-54647

又は特開平4-63552) 利用されているが、白内障を予防又は抑制する目的で、食品に添加しあるいは医薬品の有効成分として用いることは従来知られていない。

【0010】本発明の飲食物及び医薬品の有効成分であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは、飲食物又は医薬品が体内に取り込まれたときアスタキサンチン及び／又はそのエステルが白内障の予防又は抑制作用を示すための有効量、例えば、アスタキサンチンとして1日摂取量あたり0.5～50mg、好ましくは1～20mg含まれているが、その上限には特別な制限は存在しない。

【0011】本発明の有効成分であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは、甲殻類の甲殻及び卵 [Kuhnら、Angew. Chem., 51, 465 (1938) 又はBer., 71, 1879 (1938)]、臓器 [Kuhnら、Ber., 72, 1879 (1939)]、福寿草や金鳳花の花弁 [Seyboldら、Nature, 184, 1714 (1959)]、種々の魚介類の皮 (Matsuno, Carotenoids Chemistry and Biology, Plenum Press, 59 頁, 1989)、卵 [Mikiら、Comp. Biochem. Physiol., 71B, 7 (1982)]、ナンキョクオキアミ [Yamaguchiら、Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 49, 1411 (1983)、緑藻ヘマトコッカス [Renstroem ら、Phytochemistry, 20, 2561 (1981)]、赤色酵母ファフィア [Andrewesら、Phytochemistry, 15, 1003 (1976)]、海洋性細菌 *Agrobacterium aurantiacum* [Yokoyamaら、Biosci. Biotech. Biochem., 58, 1842 (1994)] などより発見されているもので、その化学構造は決定され [Andrewesら、Acta Chem. Scand., B28, 730 (1974)]、また有機合成法も確立しているところから [Widmerら、Helv. Chem. Acta, 64, 2405 (1981) およびMayerら、Helv. Chem. Acta, 64, 2405 (1981)]、化学合成品としても入手は容易である。

【0012】したがって、その供給源には特に制限はなく、例えば、化学的に合成されたアスタキサンチンでも、またアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有する天然物から分離したものであってもよく、具体的には赤色酵母ファフィア、緑藻ヘマトコッカス、海洋性細菌等を適当な培地で培養し、その培養物から抽出したもの、あるいはナンキョクオキアミ等から抽出したもの等を挙げることができる。これらの抽出物は、有機溶媒、好ましくはエタノールやアセトンを用いて抽出された抽出エキスの状態であってもよく、またこの抽出エキスを必要に応じて適宜精製したものであってもよい。

【0013】参考のため、以下に赤色酵母ファフィア (*Phaffia rhodozyma*) を適当な培地で培養し、その培養物から抽出エキスを得る方法、並びにアスタキサンチン又はそのエステルを精製する方法を例示する。

【0014】赤色酵母ファフィア (*Phaffia rhodozyma*) を用いて、アスタキサンチン及びそのエステルを製造する際に使用される培地は、液体及び固体のいずれでもよいが、通常は液体培地による振とう培養または通気

攪拌培養が有効である。培地は赤色酵母が生育して菌体内にアスタキサンチン及び／又はそのエステルを蓄積するものであればよい。すなわち、炭素源としては、例えばグルコース、ラクトースなどの糖類、グリセリン、デンプン、有機酸類などが、また窒素源としては、例えばペプトン、カザミノ酸などのタンパク質加水分解物、肉エキス、酵母エキス、大豆粕、アミノ酸類、アンモニウム塩、硝酸塩その他の各種窒素化合物が用いられる。無機塩としては各種リン酸塩、硫酸塩、塩化ナトリウムを添加しても良く、また、菌体の生育促進のため各種ビタミン類、ミネラル類、核酸関連化合物などの添加も可能である。

【0015】培養にあたっては、直接本培養を行わず、予め小規模な前培養を行って得られる培養物を本培養用培地に接種するのが望ましい。培養時の温度、期間、液性などは本発明化合物の蓄積量が最大になるように適宜選択、調節されるが、多くの場合、好気条件下で15℃～30℃、3～7日の培養でよく、また培地の液性はpH4.0～9.5に保つのがよい。

【0016】かかる培養により、菌体内にアスタキサンチン及び／又はそのエステルが生産、蓄積される。したがって液体培地を用いた場合、培養物を一旦濾過あるいは遠心分離して菌体を回収後、数度水で洗浄する。この様にして得られた菌体を物理的手法を用いて破碎した後乾燥する。乾燥菌体より目的化合物の分離、精製はアスタキサンチン及び／又はそのエステルの化学的特性に基づいて種々の手法が選択可能である。すなわち、各種の高極性有機溶媒による抽出や溶解が選択されるが、好ましくはエタノール又はアセトンを用いた菌体抽出である。溶媒量は通常乾燥菌体に対して3～5倍量が好ましく、室温にて数時間の攪拌による抽出を2～3回繰り返せば充分である。次いでこの抽出液を合一し、40℃以下で減圧濃縮するとアスタキサンチン及びそのエステルを含む油状の粗抽出エキスが得られる。本抽出エキスを含有されるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは用いる溶媒等の諸条件によって変動するが、通常1～10%程度である。

【0017】さらにこの粗抽出エキスからヘキサンなどの低極性有機溶媒を用いた不純物の除去、ゲル濾過、各種イオン交換体を用いたイオン交換クロマトグラフィー、シリカゲル、シアノプロピル、アルミナなどを担体とする吸着クロマトグラフィーなどを有効に用いて精製を行い、これらの手段の組み合わせにより本発明物質は単離される。ただし、これら以外の方法でも本発明物質の特性を有効に利用できるものであれば適宜利用可能である。なかんづく、ダイヤイオンHP-20、コスモシルC18-AR、コスモシル5CN-20の組み合わせを好ましいものとして挙げることができる。

【0018】またアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有するオキアミ抽出物を得る方法として、特開

昭60-4558号公報には、オキアミの生体またはそれらの乾燥体を、アセトン、n-ヘキサン、酢酸エチル等の有機溶剤で浸漬し、色素を溶出した溶剤抽出液について、そのpHを中性にした後、リパーゼあるいはアルカリを添加して脂肪酸その他のきょう雑物を分解し、これを超臨界ガス抽出あるいは分子蒸留し、又は希アルカリを用いて洗浄することを特徴とする黄色～赤橙色素アスタキサンチンの製造方法が、また特開昭61-281159号公報には、オキアミの乾燥体から、アセトン、n-ヘキサン等の有機溶剤で抽出された粗色素液について、色素以外の不飽和脂質を触媒で選択的に水素添加した後、リパーゼを添加して脂質を加水分解し、遊離した脂肪酸を尿素付加及び又は分子蒸留で除去し、必要であればさらにカラムクロマトグラフィーにより濃縮、精製することを特徴とする橙色色素アスタキサンチンの製造方法が開示され、さらに、山下栄次：食品と開発 vol. 27 No. 3 (通巻409号) p38～40 (1992) には、オキアミの有機溶剤抽出物または超臨界抽出物について高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を行うことによって、アスタキサンチンジエステル、モノエステル及び遊離のアスタキサンチンを分離することができること、特開平5-155736号公報には、HPLCを行うことによってトリグリセリドや極性脂質などが除去でき、色素濃度を飛躍的に上げることができ、また海産物特有の臭いの元となる物質も除去されること、そしてカラムに充填する固定相となる吸着剤は例えばシリカゲル、ケイ酸、活性アルミナなどがあり、移動相となる低極性溶剤としては例えばn-ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテルなどがあり、極性溶剤としては例えばアセトン、酢酸エチル、メタノールなどがあり、色素の精製には、まずn-ヘキサンでトリグリセリドなどの低極性脂質を溶出させ、次にn-ヘキサン中のアセトンの含有を増す（アセトン含量は約0.1～20%アセトン/n-ヘキサンの範囲）ことにより色素を溶出回収することが記載されており、いずれの方法を用いてもよい。

【0019】アスタキサンチンのエステルは、食用あるいは医薬用として許容される任意の脂肪酸とのエステルであり、例えばパルミチン酸、ステアリン酸等の飽和脂肪酸、あるいはオレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸、ビスホモ γ -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等の不飽和脂肪酸のエステルが挙げられ、これらがアスタキサンチンに1つ結合したモノエステル及び2つ結合したジエステルのいずれも本発明に使用できる。

【0020】本発明の有効成分を食品又は医薬品として利用する場合、上記の粗抽出エキスあるいは精製品のいずれを使用することもできる。これらを使用する場合、アスタキサンチンおよびそのエステルの性状は油状であるところから、常法にしたがって有効成分を浮剤化あるいはシナジストとなるような化合物を加えて浮剤化する

ことができる。

【0021】

【発明の実施の形態】次に、本発明の飲食物及び医薬品の組成及び製剤について説明する。本発明における有効成分であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは化学的に合成されたものでも天然物由来のものでもよく、これらを単独であるいは適宜組み合わせ使用可能である。アスタキサンチンあるいは粗抽出エキスはエタノールに溶解し、そのまま水で希釈して使用することも可能であるが、必要に応じて乳液状製剤を調製することができる。乳液状製剤の調製にあたっては、水相部に没食子酸、L-アスコルビン酸（あるいはそのエステルまたは塩）、ガム質（例えばローカストビーンガム、アラビアガムまたはゼラチン等）、さらにビタミンP（例えばヘスペリジン、ルチン、ケルセチン、カテキン、チアニジン等のフラボノイド類またはポリフェノール類あるいはその混合物）等を、また油相部にはアスタキサンチンあるいはそのエステル、粗抽出エキス、またはその混合物を添加し、さらにグリセロール、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、デキストリンまたは油脂、例えばナタネ油、大豆油、コーン油等通常の液状油を加えて乳化することによって容易に調製できる。乳化に際しては、拘束攪拌機、ホモジナイザー等を用いて混合乳化が可能である。

【0022】また、本発明の医薬として、錠剤及び粉末のような固形投薬形態、あるいはエリキシロール、シロップ及び懸濁液のような液体投薬形態で経口投与される。また非経口投与的に、例えば注射剤、座薬としても使用可能である。これらの医薬活性成分としてはアスタキサンチンは化学合成品でも天然物由来のアスタキサンチンあるいはそのエステル又は粗抽出エキスでもよく、これらを単独でもしくは適宜混合して用いられる。経口投与薬として使用する場合は補助剤としては、例えば固形粉末上の担体、ラクトース、サッカロースなどの糖、グリシンなどのアミノ酸、セルロース等が挙げられる。また潤滑剤として二酸化珪素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール等、結合剤としてデンプン、ゼラチン、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン等が例示できる。崩壊剤としてはデンプン、寒天等がある。

【0023】本発明の医薬品中に含まれるアスタキサンチン及び／又はそのエステル（有効成分）の量は、アスタキサンチンとして成人に対して1日あたり、普通0.5mg～50mg、好ましくは1mg～20mgの服用量で経口投与を行うか、あるいは非経口投与を行うことができる量である。投与量は、投与される疾患の種類、患者の年齢、体重、症状の程度、投与形態によって異なることは明らかである。本発明の有効成分は、白内障の発症又は進行を抑制するため、白内障による視力障害とともに併発する単眼複視、眼精疲労、ハレーションをも抑制し得

る。

【0024】また本発明の飲食物の形態としては、マーガリン、バター、バターソース、チーズ（ナチュラル、プロセス）、生クリーム、ショートニング、ラード、アイスクリーム、ヨーグルト、コーヒー用ミルク、乳製品、ソース、スープ、肉製品、魚製品、ポップコーン、フライドポテト、ポテトチップ、ふりかけ、だて巻き、和菓子類（せいべい等）、洋菓子類（プリン、ゼリー、グミキャンディー、キャンディー、ドロップ、キャラメル、チョコレート、チューインガム、ペストリー等）、焼き菓子類（カステラ、ケーキ、ドーナツ、ビスケット、クッキー、クラッカー等）、マカロニ、パスタ、サラダ油、インスタントスープ、ドレッシング、卵、マヨネーズ、みそ、炭酸系飲料、非炭酸系飲料（果汁飲料、ネクター飲料等）、清涼飲料、スポーツ飲料、茶、コーヒー、ココアなどの非アルコール飲料、リキュール、薬用酒等のアルコール飲料等の一般食品の形態を挙げることができる。

【0025】本発明の飲食物は、アスタキサンチン及び／又はそのエステル、もしくはこれらを含有する天然物から得られたものを、一般食品の原料とともに配合し、通常の方法により加工製造することができる。その配合濃度は剤形、食品の形態性状により異なるが、一般には0.001～10%が好ましいが特に限定されるものではない。ただし最終製品の1日摂取量あたり、本発明の有効成分が、アスタキサンチンとして白内障の発症又は進行を抑制するのに必要な量だけ含まれるように調製する。現在知られている限り成人1日摂取量あたりアスタキサンチンとして0.5～50mg、好ましくは1～20mgが好ましいが、そのような量は、当業者が適宜選択できる。

【0026】本発明の飲食物を栄養補助食品あるいは機能性食品として用いる場合、その形態は、上記医薬製剤と同様の形態でもよいが、例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等が配合された自然流動食、半消化態栄養食および成分栄養食や、ドリンク剤、カプセル剤、経腸栄養剤等の加工形態であってもよい。スポーツドリンクあるいは栄養ドリンクとして提供する場合は、栄養バランスを整え、かつ摂取時の風味を一層よくするため、易消化性の含水炭素、アミノ酸、ビタミン類、ミネラル類等の栄養的添加物や甘味料、香辛料、香料、色素等を配合することもできる。

【0027】本発明の栄養補助食品あるいは機能性食品の形態は、これらに限定されるものではなく、上記の一般食品の形態であってもよいが、できれば単位服用形態

にあることが望ましい。

【0028】

【実施例】以下、実施例及び参考例を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0029】

【参考例1】

赤色酵母ファフィア (Phaffia rhodozyma) の培養によるアスタキサンチン及びそのエステル粗抽出エキスの製造

10 酵母エキス0.3%、ポリペプトン0.5%及びグルコース1.0%からなる液体合成培地を坂口フラスコに100mlづつ5本に分注し、120℃、20分間オートクレーブで加熱滅菌した。これに赤色酵母ファフィア (Phaffia rhodozyma) ミラー株 (ATCC-24201株) の純粋培養物を一白金耳接種し、25℃で72時間往復式振とう器を用いて培養した。次いで酵母エキス0.3%、ポリペプトン0.5%及びグルコース1.0%からなる液体合成培地25lを50lのジャーファーメンターに入れ、120℃、20分間オートクレーブで加熱滅菌した。これに上記の前培養液500mlを接種し、25℃で48時間、12l/min通気攪拌培養した。その後、さらに1%分のグルコースを追加し、さらに48時間培養を行った。得られた培養液を遠心分離し、湿重量で約600gの菌体を得ることができた。かかる方法で得られた菌体を凍結乾燥後、5倍量のアセトンを加え、超音波処理を行いつつ抽出した。濾過法にて残渣を分別し、500mlのアセトンを加えて同様に抽出を実施し、かかる操作を3回繰り返した。得られた赤色アセトン抽出液を全て合一し、30℃で減圧濃縮することによりアスタキサンチン及びそのエステルの粗抽出エキスを得た。

30 【0030】本粗抽出エキスを、少量のジクロロメタンに溶解し、シリカゲルを担体とする吸着クロマトグラフィーを実施し、10%酢酸エチル含有ジクロロメタンを用いて展開して主成分の赤色色素画分を分取した。さらにこの成分をナカライテスク社製5CN-20を担体とする高速液体クロマトグラフィーに付し、ヘキサン/ジクロロメタン/エタノール/N-エチルジイソプロピルアミン (80:20:0.5:0.5) を移動相として用いてアスタキサンチンを最終的に分離した。収率はファフィア乾燥粉体1gあたり約6mgであった。

40 【0031】

【実施例1】

アスタキサンチンによる、ラットの糖尿病モデルに発症する白内障の抑制作用

ラットの糖尿病モデルに白内障が発生することはよく知られている。このモデルを利用して、アスタキサンチンによる白内障の抑制作用を以下のように確認した。

【0032】実験動物および飼育条件

実験動物は日本クレア（株）から購入したWistar系ラット（雄、7週齢、体重約200g）16匹を用いた。2週間の予備飼育後、生理食塩水に溶解したストレプトゾトシン

(5mg/100g体重)を腹腔内投与し、2週間後に血糖値を測定して血糖値が200mg/dl以上にあることを確認した。この糖尿病ラットを2群に分け、ストレプトゾトシン(STZ)投与日を0週とし、調製した飼料は2週目から摂取させた。飼料および水は自由摂取とし、室温23±1℃、RH50±5%、12時間の明暗サイクルで約4ヶ月間飼育した。

【0033】飼料組成

糖尿病ラットの2群の一方をコントロール食群、もう一方をアスタキサンチン食群とした。飼料組成については、表1のように調製した。

*【0034】コーンスターチは日本クレア(株)から、カゼインは和光純薬(株)、スクロースは三井製糖(株)、セルロース、ビタミンミックスおよびミネラルミックスはオリエンタル酵母(株)より購入した。また、コーンオイルはエーザイ(株)より、Astax-1700およびアスタキサンチン及びそのエステルを除いたオキアミオイルはイタノ冷凍(株)のものを使用した。なお、ビタミンミックスおよびコーンオイルはビタミンEフリーのものをを用いた。

【0035】

【表1】

表1 実験飼料食の組成

成分	量(g)	
	コントロール食	アスタキサンチン食
コーンスターチ	450	450
カゼイン	200	200
スクロース	200	200
セルロース	50	50
ミネラルミックス*	40	40
ビタミンミックス*	10	10
コーンオイル	48	48
Astax-1700**	—	2
オキアミオイル***	2	—
トータル	1000	1000

* Harper's mixture [Harper, 1951] (ビタミンEフリー)

** 1%アスタキサンチンを含むオキアミオイル

*** アスタキサンチン及びそのエステルを除去したオキアミオイル

【0036】白内障の観察

糖尿病ラットの眼を飼育期間を通して定期的に観察し、白内障の進行を記録した。観察は毎回同時間、同環境のもとに行われた。眼が赤く透明で白濁のないものを0、眼が真っ白に濁り白内障がもっとも進行していると思わ※

※れるものを9とし、各群個々に左右の眼を観察した。各8匹のラットよりなるコントロール食投与群およびアスタキサンチン食投与群の観察結果を表2に示す。

【0037】

【表2】表2 糖尿病ラットにおける白内障の程度*

週	コントロール												アスタキサンチン											
	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
4	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
5	21	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
6	44	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
7	77	01	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	02	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
8	78	13	01	21	11	01	00	00	00	00	00	00	85	20	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
9	79	15	11	21	21	01	01	00	00	00	00	00	39	30	10	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10	99	16	32	41	34	01	23	00	00	00	00	00	89	62	11	01	00	00	00	00	00	00	00	00
11	99	18	45	61	78	01	24	00	00	00	00	00	99	74	12	13	10	00	00	00	00	00	00	00
12	99	38	66	71	78	01	35	00	00	00	00	00	99	75	12	33	10	00	00	00	00	00	00	00
13	99	68	66	71	78	01	46	00	00	00	00	00	99	77	12	44	20	01	00	00	00	00	00	00
14	99	78	77	91	78	01	88	00	00	00	00	00	99	88	46	77	65	02	00	00	00	00	00	00
15	99	88	88	91	78	11	89	01	00	00	00	00	99	88	56	78	66	03	00	00	00	00	00	00
16	99	88	99	91	78	11	89	24	00	00	00	00	99	88	56	88	66	06	10	00	00	00	00	00
17	99	99	99	91	78	51	89	49	00	00	00	00	99	88	66	88	67	29	21	00	00	00	00	00

* 白内障の程度は0ないし9の基準で評価した。

L=左眼、R=右目

アスタキサンチンは、飼料に100ppm添加

【0038】表2に見られるとおり、アスタキサンチンを100ppm添加した食事を与えられたラットは、コントロール群のラットに比べ、ストレプトゾトシンの投与による白内障の発症が有意に抑制された。

【0039】

【参考例2】

アスタキサンチンの抗変異原性試験

エイムス／サルモネラテスト（プレインクベーション法）にてアスタキサンチンの抗変異原効果を調べた。用いた菌株はサルモネラ・ティフィムリウム（*Salmonella typhimurium*）TA102株で、本株はプレオマイシンやアルデヒド類等のフリーラジカルを生成する変異原に対して感受性の高いものである。陽性対照としてはマイトマイシンC（MMC）を用いた。また、溶媒対照としてはジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた。試料としてはアスタキサンチン単独、及びアスタキサンチンにMMCを加えたものの2種類とした。それぞれの試料はアスタキサンチンの濃度を最高5mg／プレートとし5段階の濃度について検討した。

【0040】まず、アスタキサンチンのDMSO溶液を滅菌小試験管に分注し（アスタキサンチン単独の試料は100μl、それ以外は50μl）、アスタキサンチン単独以外の試料にはMMCを最終量が0.5μl／プレートになるように50μl加えた。次いでそれぞれにリン酸緩衝液（pH7.4）を0.5ml、前培養した菌懸濁液を0.1ml加えた。これらを振とう培養恒温槽を用い、37℃で20分間振とうしながらプレインキュベートし、軟寒天を2.5ml加え、泡が生じないように混合後、最少グルコース寒天培地に注ぎ一様にプレート上に広げた。これを37℃で2日間インキュベートした後、プレート上でテスト菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて調べ、復帰突然変異により生じたコロニー数（図3）を数えた。

【0041】その結果、アスタキサンチン自体には突然変異原性は全く認められなかった。一方、陽性対照であるMMCに対する抗変異原性は、最高濃度5mg／プレートのとき変異原性を34.5%抑制し、その効果が確認された。

【0042】

【製剤例1】

乳化状製剤

油相部	(重量%)
アスタキサンチン	10.0
ナタネ油	30.0
コハク酸グリセリド	2.0
水相部	
L-アスコルビン酸	2.0
没食子酸	1.0

ケルセチン	1.0
ローカストビーンガム	0.1
水	53.9

ローカストビーンガムを溶解させた水を65℃に加熱してから没食子酸とL-アスコルビン酸とケルセチンを混合し、予め65℃で混合、溶解しておいた油相部を混合、攪拌後ホモジナイザーを通し、均質化し10℃まで冷却して上記配合の乳化状製剤を得た。この乳化状製剤は、1回あたり約1～20ml飲用する。

10 【0043】

【製剤例2】

乳化状製剤	(重量%)
油相部	
アスタキサンチン	20.0
ナタネ油	20.0
クエン酸モノグリセリド	2.0
水相部	
L-アスコルビン酸	2.0
没食子酸	1.0
ヘスペリジン	1.0
ローカストビーンガム	0.05
水	54.95

20

ローカストビーンガムを溶解させた水を65℃に加熱してから没食子酸とL-アスコルビン酸とヘスペリジンを混合し、予め65℃で混合、溶解しておいた油相部を混合、攪拌後ホモジナイザーを通し、均質化し10℃まで冷却して上記配合の乳化状製剤を得た。この乳化状製剤は、1回あたり約1～20ml飲用する。

【0044】

30 【製剤例3】

錠剤

	(重量%)
アスタキサンチン	5
乳糖	80
重質酸化マグネシウム	15

を均一に混合し、1粒180mgの錠剤とした。

【0045】

【製剤例4】

散剤及び顆粒剤

	(重量%)
アスタキサンチン	45
乳糖	40
デンプン	15

を均一に混合し、散剤又は顆粒剤とした。

【0046】

【製剤例5】

カプセル剤	
ゼラチン	70.0%
グリセリン	22.9%
パラオキシ安息香酸メチル	0.15%

50

13

パラオキシ安息香酸プロピル 0.51%
 水 適量
 計 100%
 上記成分からなるソフトカプセル剤皮の中に、オキアミ
 抽出油脂 (ASTAX1700, アスタキサンチンジエ
 ドリンク剤

呈味:DL-酒石酸ナトリウム 1g
 コハク酸 0.09g
 甘味:液糖 8kg
 酸味:クエン酸 120g
 ビタミン:ビタミンC 100g
 アスタキサンチンエチルエステル 10g
 ビタミンE 300g
 シクロデキストリン 50g
 香料 150ml
 塩化カリウム 10g
 硫酸マグネシウム 5g

上記の成分を配合し、水を加えて100リットルとし
 た。このドリンク剤は、1回あたり約100mlを飲用す
 る。

14
 ステル1.7%含有)を常法により充填し、1粒180
 mgのソフトカプセルを得た。
 【0047】
 【製剤例6】

【0048】
 【製剤例7】

20

滋養強壮強精剤

呈味:DL-酒石酸ナトリウム 1g
 コハク酸 0.09g
 甘味:液糖 8kg
 酸味:クエン酸 120g
 ビタミン:ビタミンC 100g
 ビタミンB1 20g
 ビタミンB2 20g
 ビタミンB6 20g
 ビタミンB12 20g
 葉酸 10g
 ニコチン酸 20g
 ビタミンE 300g
 シクロデキストリン 50g
 アスタキサンチン 10g
 香料 150ml
 塩化カリウム 10g
 硫酸マグネシウム 5g

上記の成分を配合し、水を加えて100リットルとし
 た。この滋養強壮強精剤は、1回あたり約100mlを飲
 用する。

【0049】

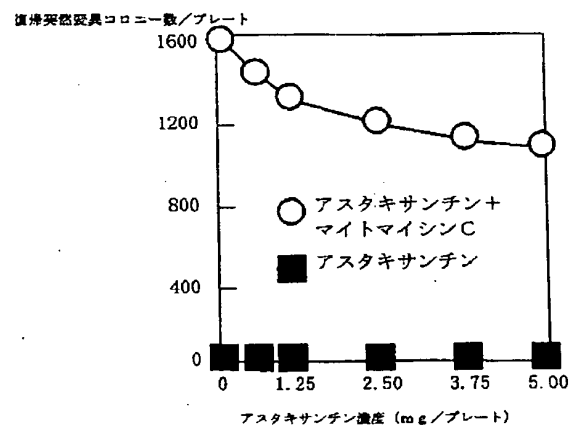
【発明の効果】本発明の飲食物および医薬に含まれるア
 スタキサンチン及び／又はそのエステルは、実施例で述
 べたように白内障を抑制する効果が認められる。アスタ
 キサンチンは元来天然に存在する物質であり食経験もあ
 ることから、低毒性で安全性も高いことが容易に考えら

れ、飲食物及び医薬品としての意義も大きく、新たな食
 品、機能性食品及び医薬品の素材としての応用が期待で
 きる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1はサルモネラ菌を用いた変異原性テスト
 において、アスタキサンチンが変異原性を示さず、むしろ
 マイトマイシンCによって誘起される変異原性を抑制
 する様子を示したグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(72) 発明者 新井 花恵
東京都足立区中央本町4丁目7番13-403
号

(72) 発明者 山下 栄次
徳島県徳島市南田宮4丁目4番44-302号